



Caractérisation génétique des populations de l'Apollon (*Parnassius apollo*) Français.

Pièce jointe à la demande de dérogation pour la capture de spécimens
d'espèces animales protégées

Contexte de la demande de prolongation de dérogation

Emblématique des montagnes européennes, cette espèce a régressé au cours du XX^e siècle. Considérée comme Vulnérable (VU) à l'échelle mondiale, Quasi-menacée (NT) en Europe et actuellement, en Préoccupation mineure (LC) en France (UICN), il n'en demeure pas moins que nombre de populations de l'Apollon déclinent. La preuve en est, les "sous-espèces" du Massif central, *Parnassius apollo lioranus* et *Parnassius apollo lozeræ* qui sont actuellement considérées comme En danger (EN) sur la liste rouge des espèces menacées de France. La France possède donc une responsabilité dans la conservation et la connaissance de cette espèce à l'échelle européenne.

En Région Auvergne-Rhône-Alpes, elle est considérée comme En danger (EN) en Auvergne et en Quasi-menacée (NT) en Rhône-Alpes.

Ce constat nous a amené en 2018 avec l'aide des parcs naturels régionaux de Chartreuse, du Vercors, des Bauges et des réserves naturelles qui leur sont associées ainsi que celle de Chastreix-Sancy en Auvergne à réaliser une première étude génétique. Les principaux résultats ont montré clairement que les populations sur ces massifs étaient pour la plupart en déclin et que génétiquement il n'y avait pratiquement pas de différence entre les populations des massifs étudiés, à l'exception de la population auvergnate qui est bien différenciée (sous-espèce ?) (Caroline Kebaili, 2019 - le rapport est en pièce jointe).

Objectif : poursuivre cette étude afin d'étendre l'aire d'analyse à des populations non étudiées jusqu'à présent dans d'autres massifs montagneux de France. Ce travail d'analyse génétique complémentaire permettra d'évaluer à plus grande échelle l'état de conservation des populations d'Apollon, de mieux comprendre l'histoire de ces dernières ainsi que d'évaluer le patrimoine génétique (sous-espèces par exemple). À terme, le but est de pouvoir connaître à l'échelle nationale les enjeux de conservation pour cette espèce et ainsi agir efficacement (liste rouge, actions de gestion, renforcement de population, etc.).

Il s'agit donc essentiellement d'un objectif de recherche.

Les pattes prélevées sur le terrain par les différentes structures et partenaires impliqués dans ce projet (voir la partie 'Moyens humains') seront envoyées à Laurence Després au Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA-Grenoble) qui coordonne l'étude au niveau national et effectuera les analyses génétiques.

I- Sites et protocole

A - les sites

L'échantillonnage couvre le Jura, les Alpes le massif central et les Pyrénées et concerne 5 régions : Bourgogne-Franche Comté ; Auvergne-Rhône-Alpes ; PACA ; Occitanie ; et Nouvelle Aquitaine. En 2021, ce sont 52 sites (150 individus) qui sont venus s'ajouter aux 24 sites déjà échantillonnés en 2018 en région AuRA, portant l'échantillonnage total à 258 individus échantillonnés dans 76 sites (voir figure 1).

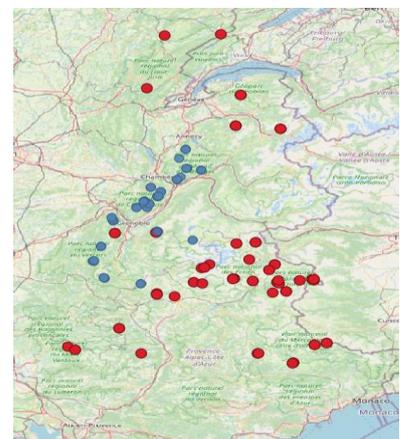
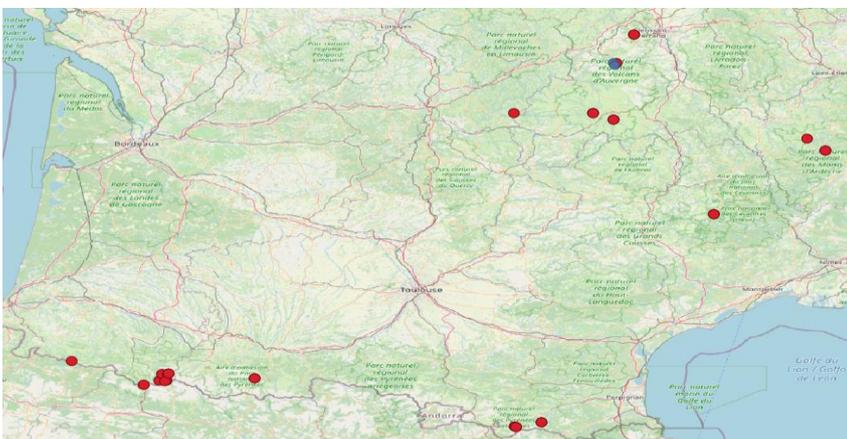


Figure 1 : Cartographie des 76 sites échantillonnés (258 individus) en 2018 (points bleus) et en 2021 (points rouges) dans les Pyrénées et le massif central (carte de gauche) et dans le Jura et les Alpes (carte de droite).

Malheureusement étant donné les mauvaises conditions météo en 2021, plusieurs sites prospectés n'ont pas pu être échantillonnés, ou de façon incomplète (moins de 5 individus), ce qui compromet la robustesse des analyses génétiques.

L'objectif de cette demande de renouvellement de dérogation est de **compléter l'échantillonnage** (sites partiellement échantillonnés en 2021 ou prospectés sans succès ou pas encore prospectés) :

1- En région Nouvelle Aquitaine

- **Dept 64 : 10 sites (complément échantillonnage 2021 + 2 nouveaux sites)** : Arrious, Bizkarzé, Pombie, Sagate, Séous, Somport, Soques, Soussouéou, Lagouare, vallée d'Aspe et vallée d'Ossau

Collecteur : Mathieu Molières (Cistude Nature)

40 individus maximum

2- En région Occitanie

- **Dept 66** : 2 sites

Collecteurs : Olivier Guardiola (technicien) et Pascal Gaultier conservateur ; Réserve naturelle de Nohèdes et de Prats-de-Mollo (2 sites)

12 individus maximum

- **Dept 09 (Ariège)** : 4 sites

Collecteurs : Laurent Servièrre (1 site : Massif de la Frau), Alexis Calard (1 site - Laurenti, Christophe Lhez (RNCFS Orlu : 1 site), Florine Hadjadj (1 site – Valier)

24 individus maximum

- **Dept 48 (Lozère)**

Collecteur : Jocelyn Fonderflick (Parc National des Cévennes)

2 sites : Causse de Sauveterre (commune Gorges du Tarn Causses + Causse Méjean (commune de Hures-la-Parade)

12 individus maximum

3- En région Auvergne-Rhône-Alpes

- **Dept 07 (Ardèche)**

Collecteur : Damien Cocâtre (PNR Monts d'Ardèche)

2 sites : ROC-07 (complément) et PRA-07 (nouveau site sur la commune de St Clément)

11 individus maximum

- **Dept 74**

Collecteur : Bernard Bal (CEN 74) et Kevin Gurcel : 2 sites : massif du Mont-Blanc et Haut-Giffre
Philippe Bordet (FLAVIA) 2 sites : Mont Salève et Mont Vuache

20 individus maximum

- **Dept 73**

Collecteurs : Philippe Francoz et Philippe Bordet (FLAVIA) : Vallée Oz, Tignes, Champagny
Kevin Gurcel : Vanoise (Vallons de Polset et de l'Orgère), Modane (Belle Plinier)
Laurence Després : Valloire

24 individus maximum

- **Dept 38**

Collecteurs : Laurence Després (LECA), Philippe Bordet (FLAVIA)
3 sites en Isère : Vaujany, Allevard, Lovitel

18 individus maximum

- **Dept 26**

Collecteurs : Philippe Bordet (FLAVIA)

3 sites: Cornillac, Mt Angèle ou Col de la chaudière, Montbrun-les-Bains

18 individus maximum

4- En région Bourgogne-Franche-Comté

Trois sites ont été échantillonnés en 2021 mais avec seulement 1 individu par site : il faudrait compléter l'échantillonnage de ces 3 sites,

- **Dept 25** (Doubs) : 2 sites : Mont d'Or, Chateau Vuillin

Collecteur : Frédéric Mora (CEN-ORI BFC)

- **Dept 39** (Jura) : 1 site : La Pesse

Collecteur : Pierre Durllet (PNR Jura)

15 individus maximum

Rappel : échantillonnage non léthal avec relâché immédiat: 1 individu= 1 patte médiane (cf ci-dessous)

B - Méthodologie

L'analyse de la diversité génétique intra et inter-population permet d'inférer des paramètres démographiques clés pour la gestion des espèces menacées d'extinction. Grâce au développement de nouvelles techniques de séquençage (ddRADseq : double digest amplified DNA sequencing), il est maintenant possible, à partir d'une seule patte prélevée par individu, et sur un faible nombre d'individu par localité, d'avoir une estimation très précise des paramètres démographiques (taille efficace, consanguinité, dispersion/migration) des populations d'une espèce, car le faible nombre d'individus est compensé par un large échantillonnage de marqueurs génétiques co-dominants, permettant une excellente estimation de la diversité génétique intra et interpopulationnelle. L'étude de 2018-2019 s'est basée sur cette technique et elle s'est révélée efficace. Ainsi, comme lors de l'étude précédente, seule une des deux pattes centrales est prélevée sur l'individu. Cette technique ne semble pas ou peu affecter le taux de survie des papillons (Marschalek et al., 2013 ; Roland et al., 2000 ; Hamm et al., 2010 ; Kosciński et al., 2011). La patte est délicatement arrachée à la base (au niveau du thorax) à l'aide d'une pince et immédiatement placée dans un tube à vis contenant un mL d'éthanol 75°. Chaque échantillon est étiqueté avec un code qui permet de retrouver son site d'échantillonnage et les coordonnées géographiques précises de capture. Les échantillons sont conservés au frais avant envoi par la poste au LECA. Afin d'avoir un échantillon reflétant la population étudiée, 5 à 6 individus seront impactés. Le choix se portera si possible sur des individus mâles afin de ne pas provoquer de "stress" inutile chez les femelles. Les prélèvements se feront sur des populations plus ou moins éloignées, afin de tisser un réseau de populations qui couvre le plus grand territoire possible. Les populations échantillonnées contiennent au minimum 100 individus.

L'ADN extrait sera digéré et amplifié puis séquencé pour être analysé. Cette méthode permet d'obtenir plusieurs centaines de marqueurs nucléaires co-dominants et d'inférer tous les paramètres démographiques indispensables à une gestion concertée à l'échelle nationale de cette espèce menacée d'extinction.

C - Résultats attendus

Des éléments de connaissance sur l'histoire évolutive des populations de *Parnassius apollo* dans les massifs montagneux français ; une estimation de leur taille et du taux de consanguinité, et des flux génétiques entre populations et entre massifs. Une caractérisation des facteurs environnementaux (altitude, température, précipitations, type d'habitat, degré de fragmentation...) qui influent sur la dispersion et la survie de cette espèce.

II- La valorisation des résultats

Elle sera réalisée par différents outils de communication scientifiques et également à l'attention du grand public.

> Ce travail étant réalisé conjointement avec le LECA, une publication scientifique est prévue à l'issue de l'étude.

> Vis à vis du grand public, il est prévu de communiquer largement sur les résultats via les outils de communication du pôle invertébrés et de l'INPN : site internet, articles de vulgarisations, etc.

> Les résultats de cette étude seront également communiqués de manière large à l'ensemble du réseau d'acteurs de l'environnement. Même, si l'espèce est plus spécifiquement montagnarde, on peut imaginer toutefois que le protocole d'acquisition des données génétiques puisse éventuellement être mutualisé ou tout du moins servir de base de recherche pour d'autres espèces et espaces, d'où l'intérêt de valoriser les résultats et la méthode de travail.

III- Planning prévisionnel

Les sessions d'échantillonnages commenceront en mai et se termineront en septembre. Compte tenu du caractère aléatoire des campagnes d'échantillonnage nous demandons une extension de la dérogation sur 2 années supplémentaires (été 2022 et été 2023).

IV- Moyens humains

Dans le cadre de cette étude, plusieurs personnes sont susceptibles d'intervenir lors des prélèvements. Comme précisé dans la méthodologie, les personnes citées ci-après captureront et prélèveront une patte centrale sur un individu mâle d'Apollon pour permettre une analyse génétique.

Région AuRA :

Association Flavia APE

- > Bordet Philippe / Trésorier.
- > Francoz Philippe / Animateur.
- > Gurcel Kevin / Animateur.

Laboratoire d'écologie alpine (LECA)

- > Després Laurence / Enseignant-chercheur.

Asters-CEN74

- > Bernard BAL chargé de mission expertises et connaissances

PNR Monts d'Ardèche

- > Damien Cocatre / chargé de mission

Région Nouvelle-Aquitaine :

- > Mathieu Molières, association Cistude

Région Bourgogne-Franche Comté :

- > Frédéric Mora / entomologiste Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés
- > Pierre Durllet / PNR Haut Jura

Région Occitanie :

Parc national des Cévennes

- Jocelyn Fonderflick / chargé de mission faune.

CEN Ariège :

- Laurent Servièrre – conservateur de la RNR du Massif du Saint-Barthélémy.
- Alexis Calard : responsable du pôle gestion conservatoire.
- Florine Hadjaj

Il est à signaler que toutes les personnes ci-dessus sont formées à la capture et à la manipulation d'un papillon.